

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 12 月 17 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590874

研究課題名(和文) 脳血管内皮の微細構造変化に着目したアルツハイマー病の病態解明

研究課題名(英文) Phenotypic alterations of brain microvascular endothelium in a model of Alzheimer disease

研究代表者

林 真一郎 (HAYASHI, Shinichiro)

独立行政法人国立循環器病研究センター・病院・医師

研究者番号：20396740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳神経のみならず全身とのクロストークを持つ脳血管に、アルツハイマー病の病態解明の新しい手がかりがあると考え本研究を開始した。アルツハイマー病モデルマウスでは、明らかな記憶障害が見られ、同時に海馬微小血管の密度が著名に減少していることを発見した。電子顕微鏡解析では、脳微小血管内皮のオートファジー誘導が確認でき、さらには細胞間タイトジャンクションの著大な拡大も発見した。オートファジーの誘導は、脳微小血管内皮のみならず血管周囲の神経細胞においても確認できた。アルツハイマー病早期における脳血管内皮のオートファジーカスケードの変化と内皮再生能の低下が確認できた。新しい病態解明の手がかりを得た。

研究成果の概要(英文)：The cause and progression of Alzheimer disease (AD) still remains unclear. Our present findings indicate that the progression of AD might be in part driven by phenotypic alterations in neurovascular endothelium with induction of endothelial autophagy and impairment of neurovascular regeneration in diseased brain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般(含心身医学)

キーワード：アルツハイマー病 オートファジー 血管内皮

#### 1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢化社会が進む日本、先進諸国において、認知症の主な原因であるアルツハイマー病の罹患率は急速に上昇しており、病態の解明と有効な治療法の開発が急務となっている。

(2) 神経に着目した研究が先行しているが、病態の解明には至っていない。

#### 2. 研究の目的

脳神経のみならず全身とのクロストークを持つ脳血管に注目し、アルツハイマーの病態解明の新しい手がかりを見つける。特に、脳血管微細構造変化・機能変化を捉えることを主目標とする。

#### 3. 研究の方法

(1) APP23 マウス/アルツハイマー病モデルマウスの行動解析および組織学的解析を行う。

(2) 組織学的解析として免疫染色および透過電子顕微鏡解析を行う。

#### 4. 研究成果

(1) 生後8ヶ月のAPP23 マウスでは、明らかな記憶障害が見られ、組織学的解析にて海馬微小血管の密度が約50%減少していることを発見した。

(2) 24ヶ月齢になると微小血管密度はさらに減少していた。

(3) 電子顕微鏡解析を行ったところ、モデルマウスの脳微小血管内皮にはオートファジーが誘導されていた。

(4) 高倍率の観察を行うと、細胞間タイトジャンクションが著明に拡大していることを発見した。脳微小血管内皮におけるオートファジー誘導が、血液脳関門に影響を与えている可能性が考えられた。

(5) モデルマウスの脳微小血管内皮に見られたオートファジー誘導は、海馬に加えて、大脳皮質の微小血管にも見られた。

(6) 微小血管周囲の神経細胞においてもオートファジー誘導が確認できた。

(7) LAMP2 染色を行ったところ、オートファジーが誘導された脳血管内皮と神経細胞に染色陽性部位が一致していた。オートファジーがライソソームと融合した advanced stage にある可能性が示唆された。

以上の結果より、アルツハイマー病における脳血管内皮の微細構造変化を捉えることができた。アルツハイマー病の新しい治療につながる重要な知見を得た。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計16件)

① Yamasaki T, Hayashi S (他6名、6番目)、  
Comparison of efficiency of intensive

versus mild pitavastatin therapy on lipid and inflammation biomarkers in hypertensive patients with dyslipidemia, Plos One、査読有、vol. 9、2014、e89057

DOI:10.1371/journal.pone.0089057. eCollection 2014

② Ohta Y, Hayashi S (他6名、3番目)、Trend of office and home blood pressure control in treated hypertensive patients, Clin Exp Hypertens、査読有、vol. 36、2014、pp.103-107

DOI: 10.3109/10641963.2014.892118

③ Hayashi S, Matsushita H (他2名1番目) Oxidative stress and cyclic strain mediated smad6 regulation in vascular endothelial cells correlates with autophagy induction and endothelial dysfunction, Stroke、査読有、vol.44 suppl、pp.111-111、2013

WOS:000330540201654

④ Hayashi S, Sato N (他2名1番目)、Phenotypic alterations of brain microvascular endothelium in a murine model of Alzheimer disease, Stroke、査読有、vol.44 suppl、pp.442-442、2013

WOS:000330540200332

⑤ Doi Y, Hayashi S (他7名、5番目)、Response to renal resistive index and cardiovascular and renal outcomes in essential hypertension, Hypertension、査読無、vol.61、2013、e23e48

<http://hyper.ahajournals.org/content/61/2/e23.long>

⑥ Ohta Y, Hayashi S (他8名、4番目)、Control of home blood pressure with an amlodipine- or losartan-based regimen and progression of carotid artery intima-media thickness in hypertensive patients: the HOSP sub study, Clin Exp Hypertens、査読有、vol.35、2013、pp.279-284

DOI:10.3109/10641963.2013.780074

⑦ Ohta Y, Hayashi S (他4名、4番目)、Effects of bezafibrate on office, home and ambulatory blood pressure in hypertensive patients with dyslipidemia, J Hum Hypertens、査読有、vol.60、2013、pp.417-420

DOI:10.1038/jhh.2012.64

⑧ Takeda S, Sato N (他4名2番目)、Increased blood-brain barrier vulnerability to systemic inflammation in an Alzheimer disease mouse model, Neurobiol Aging、査読有、vol.34、2013、pp.2064-2070

DOI:10.1016/j.neurobiolaging

⑨ 林 真一郎、河野 雄平、治療抵抗性高血圧とは、定義と頻度、血圧、査読無、20巻、2013、pp.517-523

[http://www.sentan.com/cgi-bin/db\\_n.cgi?mode=view\\_backno&no=985](http://www.sentan.com/cgi-bin/db_n.cgi?mode=view_backno&no=985)

- ⑩ 岩嶋 義雄、林 真一郎 (他 3 名、3 番目)、本態性高血圧患者を対象にしたアムロジピン 5mg+イルベサルタン 100mg の併用と、トリクロロメチアジド 1mg+イルベサルタン 100mg の併用に関する比較試験、Therapeutic Research、査読無、34 巻、2013、pp. 787-796  
<http://www.lifescience.co.jp/tr/13/tr1306.html>
- ⑪ 大田 祐子、林 真一郎 (他 5 名、4 番目)、高血圧患者における降圧薬物の降圧度と腎機能および尿酸値の変化-GEANE 研究サブスタデー、日本未病システム学会雑誌、19 巻、2013、pp. 116-121  
<http://www.mibyuu.gr.jp/kikanshi.htm>
- ⑫ 岩嶋 義雄、林 真一郎 (他 2 名、2 番目)、コントロール不良高血圧患者を対象としたテルミサルタン/ヒドロクロチアジド配合錠の降圧効果と代謝・腎機能への影響についての検討、血圧、20 巻、2013、pp. 517-523  
[http://www.sentan.com/cgi-bin/db\\_n.cgi?mode=view\\_backno&no=954](http://www.sentan.com/cgi-bin/db_n.cgi?mode=view_backno&no=954)
- ⑬ Klionsky DJ, Hayashi S, Yamamoto A (他 1267 名、421 名)、Guideline for the use and interpretation assays for monitoring autophagy、Autophagy、査読有、vol. 8、2012、pp. 445-544  
<https://www.landesbioscience.com/journals/autophagy/article/19496/?nocache=1839736584>
- ⑭ Doi Y, Hayashi S (他 6 名、5 番目)、Renal Resistive index and cardiovascular and renal outcomes in essential hypertension、Hypertension、査読有、vol. 60、2012、pp. 700-707  
DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.196717
- ⑮ Tawada M, Hayashi S (他 3 名、2 番目)、Human gastric cancer organize neighboring lymphatic vessels via recruitment of bone marrow-derived lymphatic endothelial progenitor cells、査読有、vol. 47、2012、pp. 1057-1060  
DOI:10.1007/s00535-012-0638-4
- ⑯ Sato N, Okochi M (他 10 名、1 番目)、Differential regulation of amyloid precursor protein/presenilin 1 interaction during Abeta40/42 production detected using fusion constructs、Plos One、査読有、vol. 7、2012、e48551  
DOI: 10.1371/journal.pone.0048551

[学会発表] (計 10 件)

- ① Hayashi S、Cyclic strain and oxidative stress mediated smad6 regulation correlates with vascular endothelial

autophagy and dysfunction、日本循環器学会学術集会、2014 年 3 月 21 日、東京

- ② 林 真一郎、高血圧におけるオートファジー制御、日本高血圧学会、2013 年 10 月 25 日、大阪
- ③ 林 真一郎、高血圧発症早期における血管内皮細胞の微小構造変化、臨床高血圧フォーラム、2013 年 5 月 26 日、東京
- ④ Hayashi S、Cilostazol regulates endothelial autophagy and preserves endothelial potential for re-endothelialization upon use of sirolimus-eluting-stent、日本循環器学会学術集会、2013 年 3 月 16 日、横浜
- ⑤ Hayashi S、Phenotypic alterations of brain microvascular endothelium in a murine model of Alzheimer disease、International Stroke Conference、2013 年 2 月 8 日、Honolulu、USA
- ⑥ Hayashi S、Oxidative stress and cyclic strain mediated smad6 regulation in vascular endothelial cells correlates with autophagy induction and endothelial dysfunction、International Stroke Conference、2013 年、2 月 6 日、Honolulu、USA
- ⑦ Hayashi S、Endothelial autophagy and dysfunction are triggered by a cyclic strain mediated Smad6 regulation、International Symposium on Autophagy、2012 年 10 月 29 日、沖縄
- ⑧ Hayashi S、Phosphodiesterase III inhibitor reduces vascular endothelial autophagy leading to an enhancement of re-endothelialization under the use of sirolimus、Meeting of International Society of Hypertension、2012 年 10 月 3 日、Sydney、Australia
- ⑨ Hayashi S、Autophagy cascades correlates with phenotypic alteration of neurovascular endothelium in a mouse model of Alzheimer disease、Meeting of International Society of Hypertension、2012 年 10 月 2 日、Sydney、Australia
- ⑩ 林 真一郎、Phenotypic alteration of neurovascular endothelium in a mouse model of Alzheimer disease、日本循環器学会学術集会、2012 年 3 月 18 日、福岡

[図書] (計 1 件)

- ① 林 真一郎 他、診断と治療社、血管再生治療-現状から未来を展望する、2012、264

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

林 真一郎 (HAYASHI Shinichiro)  
国立循環器病研究センター・病院・医師  
研究者番号：20396740

### (2) 研究分担者

里 直行 (SATO Naoyuki)  
大阪大学・医学系研究科・寄付講座准教授  
研究者番号：70372612

### (3) 連携研究者

山本 章嗣 (YAMAMOTO Akitsugu)  
長浜バイオ大学・バイオサイエンス研究科・  
教授  
研究者番号：30174775